



Carbon sources utilization by *Trichoderma* strain isolated from dairy sewage sludge

Agata Gryta, Magdalena Frąc, Karolina Oszust, Anna Siczek, Nina Bilińska-Wielgus

Instytut Agrofizyki Polskiej Akademii Nauk, ul. Doświadczalna 4, 20-290 Lublin 27, tel.: (81) 744 50 61
e-mail: a.gryta@ipan.lublin.pl, m.frac@ipan.lublin.pl



Praca naukowa finansowana przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach Programu LIDER 2011-2014. Scientific work supported by National Centre of Research and Development – LIDER Programme 2011-2014.

Wstęp

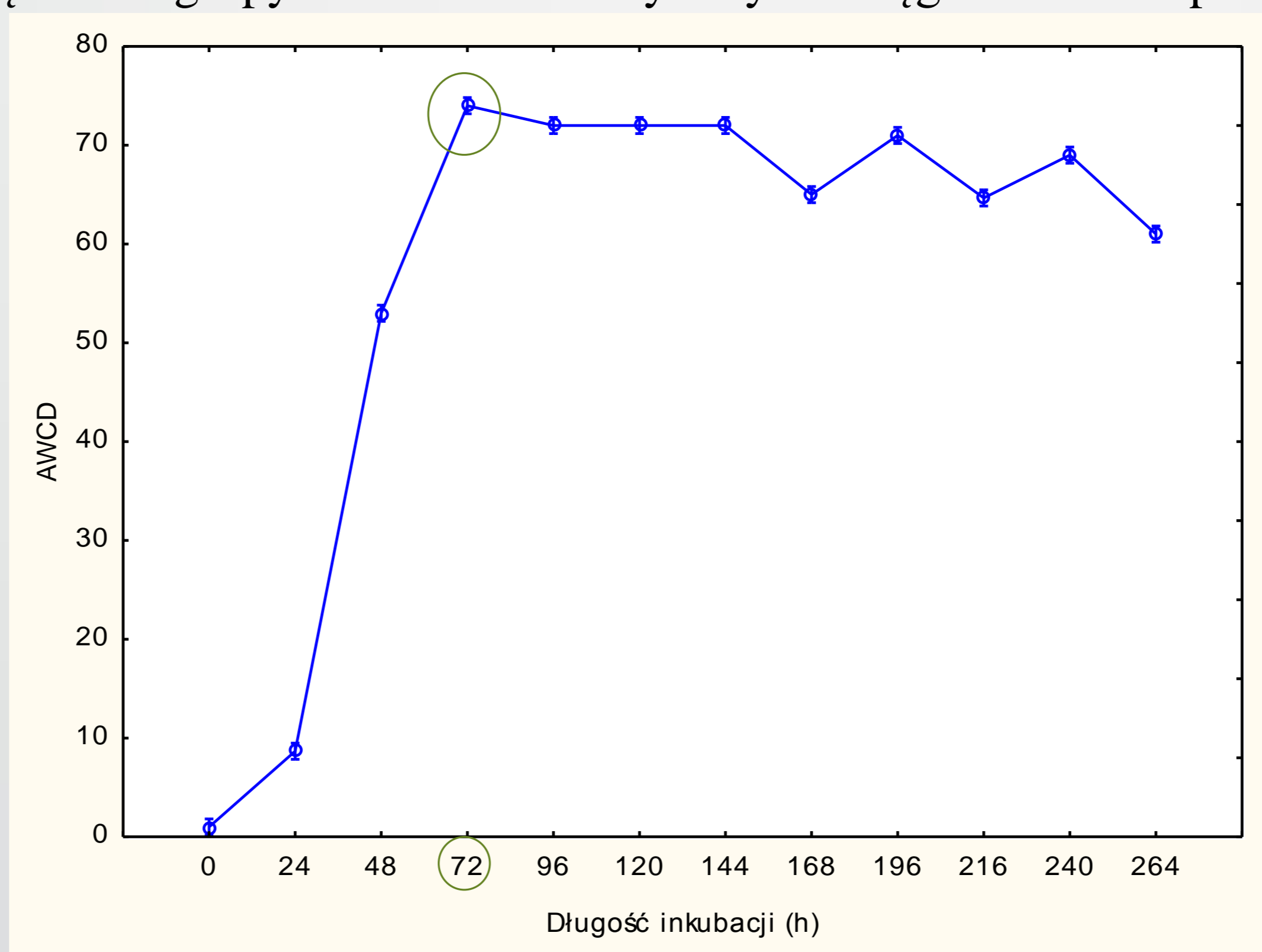
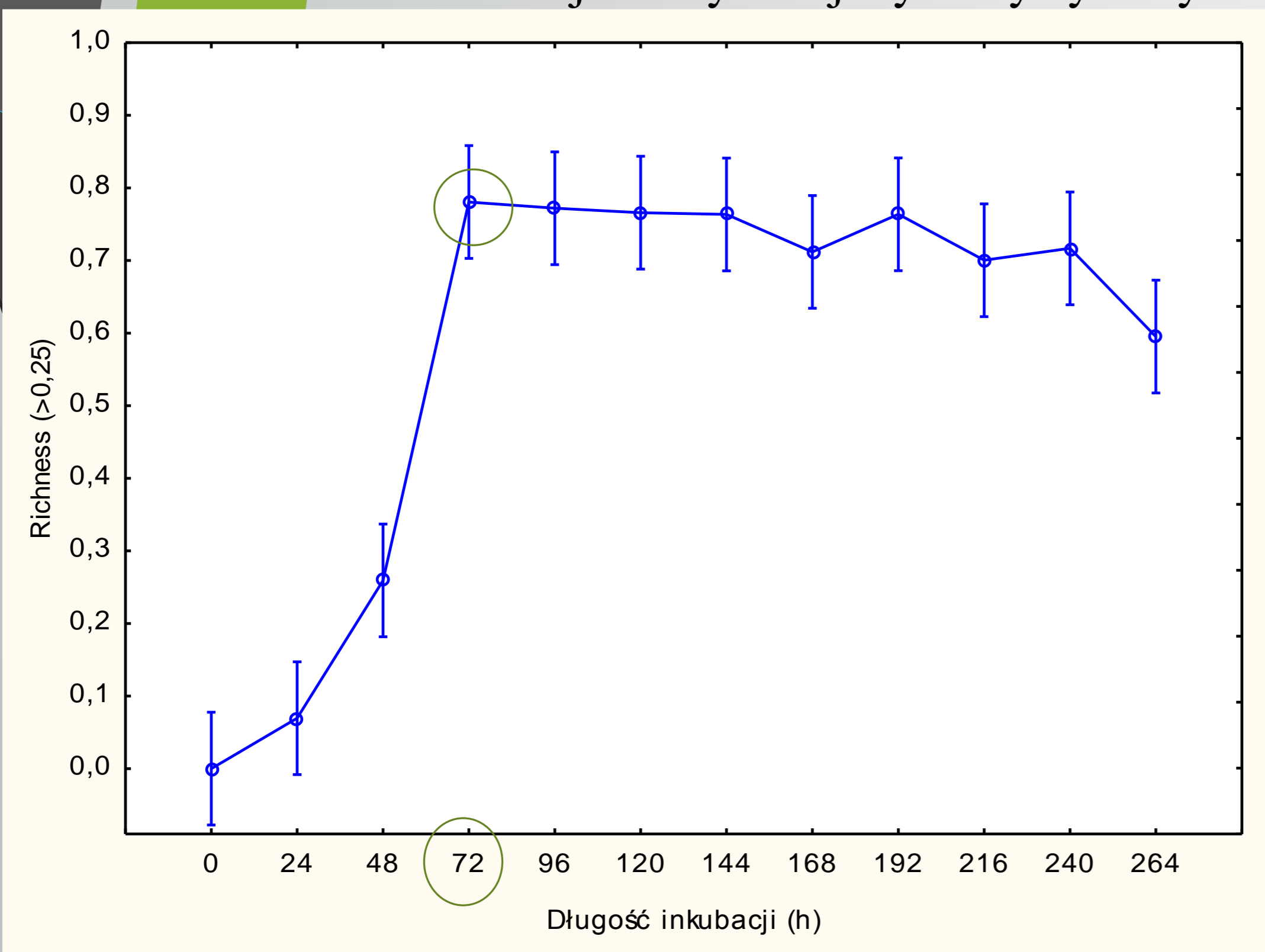
Skład mykologiczny osadów ściekowych pochodzących z oczyszczalni ścieków mleczarskich, nie jest ściśle określony. Obecność grzybów jest potencjalnym zagrożeniem ze względu na właściwości chorobotwórcze (dermatofity, grzyby toksynotwórcze m.in. *A. flavus*, *A. fumigatus*, *A. ochraceus*, oraz drożdżaki). Jednakże, zbiorowiska grzybów zasiedlających odpady charakteryzują się dużą różnorodnością fizjologiczną, która jest istotna w procesach rozkładu związków obecnych w odpadach. Dlatego też, poszukiwanie i charakterystyka metaboliczna szczepów grzybowych wyizolowanych z różnego rodzaju osadów może być cenna w opracowywaniu metod biodegradacji, czy unieszkodliwiania odpadów. Profilowanie metaboliczne grzybów jest wykorzystywane w określeniu ich uzdolnień do utylizacji i degradacji związków, występujących między innymi w organicznych materiałach odpadowych. Grzyby strzępkowe charakteryzują się specyficznym szlakiem biochemicznym wynikającym z asymilacji różnych związków, niezbędnych do produkcji metabolitów. Określenie profilu biochemicznego jest także wykorzystywane w ich identyfikacji. Zastosowanie systemu Biolog FF MicroPlate pozwala na uzyskanie „metabolicznego odcisku palca”, wyrażającego charakterystykę uzdolnień fizjologicznych szczepów grzybów wyizolowanych z różnych środowisk. Charakterystyka metaboliczna przy użyciu płytek Biolog FF opiera się na wskazaniu różnic w wykorzystywaniu przez grzyby substratów węglowych, którymi opłaszczono są studzienki w płytce. Substraty węglowe zgrupowane są w kategorie: węglowodany, kwasy karboksylowe i ketonowe, aminy i amidy, aminokwasy oraz polimery.

Cel pracy

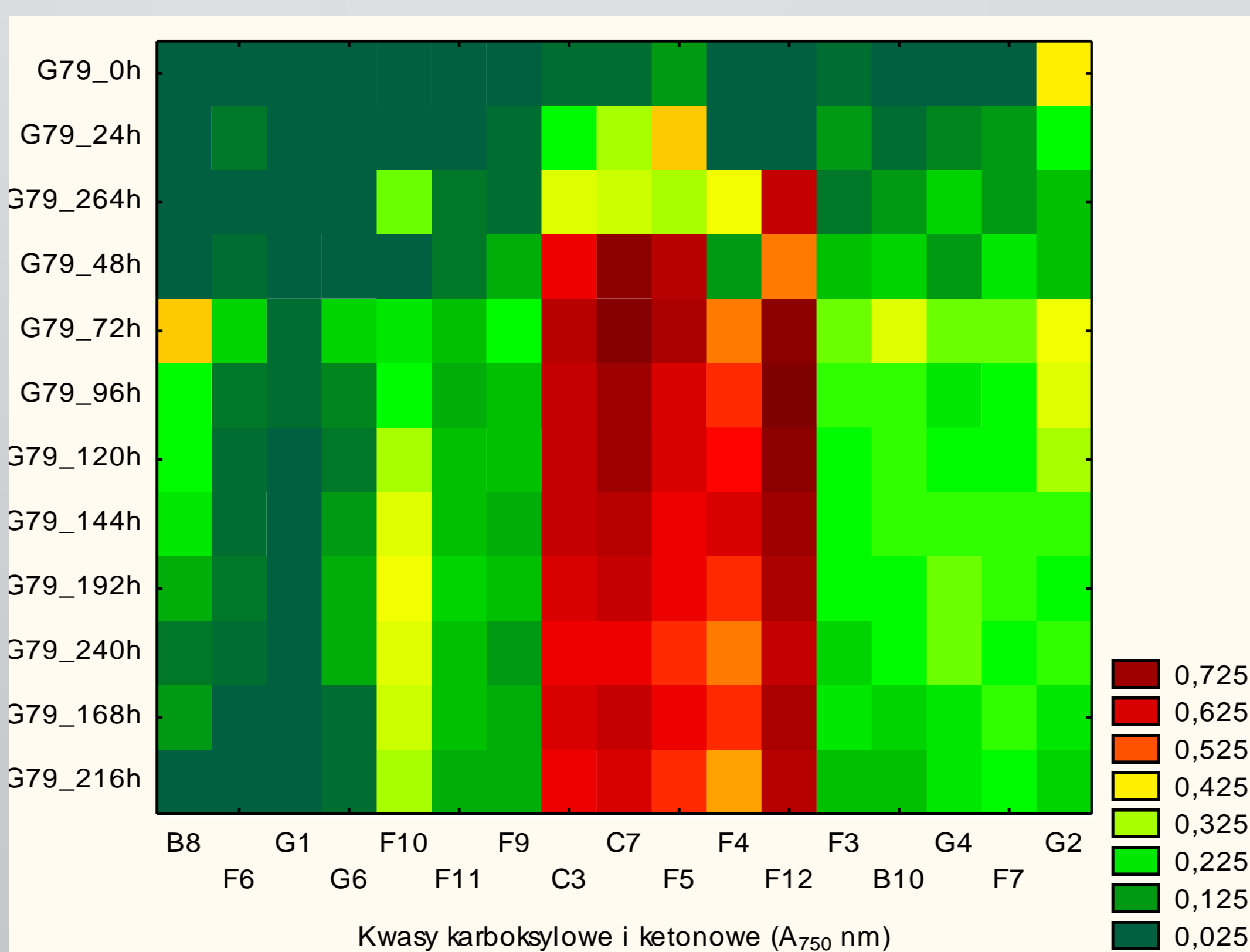
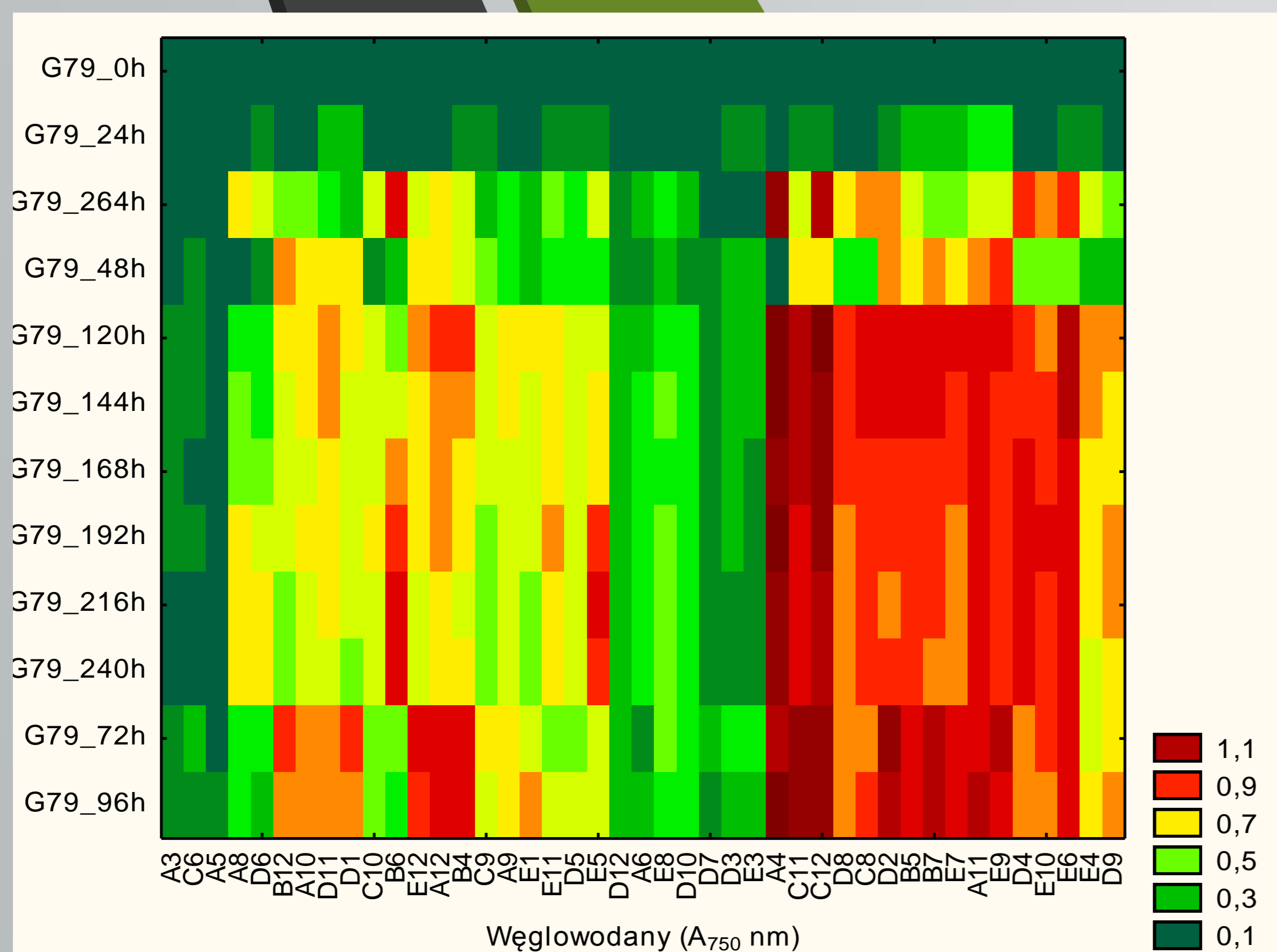
Celem prezentowanych badań była charakterystyka metaboliczna środowiskowego szczepu *Trichoderma atroviride* (G79/11) wyizolowanego z osadu ścieków mleczarskich, obejmująca związki należące do węglowodanów i kwasów karboksylowych. Badania miały również na celu ustalenie na czym polega różnica w wykorzystaniu poszczególnych grup substratów węglowych w ciągu 264 godzin hodowli oraz ocenę kolejności uruchamiania związków przez badany szczep *Trichoderma*.

Metody badań i wyniki

W celu określenia profilu metabolicznego wybranego szczepu *Trichoderma atroviride* wykorzystano płytki Biolog FF Plates. Na podstawie odczytów kolorymetrycznych dokonano analizy wzrostu grzybni poprzez pomiar gęstości optycznej (OD) przy długości fali 750nm podczas 11-dniowej hodowli, a następnie wyznaczono profil metaboliczny szczepu (AWCD oraz procentowe wykorzystanie poszczególnych substratów węglowych). W celu określenia najintensywniej wykorzystywanych związków z grupy kwasów karboksylowych i węglowodanów przeprowadzono analizę skupień.



- Najwyższą aktywność metaboliczną uzyskano w 72 godzinie inkubacji. Wysoki poziom kataboliczny wszystkich analizowanych związków utrzymywał się do 10 dnia prowadzenia hodowli, po czym zaobserwowano istotne obniżenie wykorzystania substratów, związane prawdopodobnie z wyczerpaniem związków odżywczych.
- Spośród węglowodanów N-acetylo-D-glukozaamina, maltoza, maltotrioza były najintensywniej wykorzystywane. Kolejną grupę stanowiły: β -metylo-D-glukozyd, α -D-laktoza, D-mannoza, D-fruktoza, D-galaktoza, sacharoza, arbutyna, D-trehaloza, D-melibioza, turanoza, stachioza, które wykazały niewiele niższy poziom utylizacji. Uwagę zwraca brak wykorzystania N-acetylo-D-galaktozoaminy, N-acetylo-D-mannoaminy i m-inozytolu. Grupa kwasów karboksylowych charakteryzowała się niskim stopniem utylizacji. Intensywny katabolizm stwierdzono tylko w przypadku kwasu D-glukuronowego, kwasu 2-okso-D-glukonowego, kwasu γ -hydroksymasłowego, kwasu β -hydroksymasłowego i kwasu chinowego.



- A3 - N-acetylo-D-galaktozoamina
- C6 - m-inozytol
- A5 - N-acetylo-D-mannozoamina
- A8 - D-arabinoza
- D6 - β -metylo-D-galaktozyd
- B12 - α -D-glukoza
- A10 - D-arabitol
- D11 - D-rafinoza
- D1 - D-mannitol
- C10 - Maltitol
- B6 - L-fukoza
- D3 - D-melezytoza
- E2 - Sedoheptulozan
- E12 - D-ksyloza
- A12 - D-celobioza
- B4 - Erytrytol
- C9 - Laktuloza
- A9 - L-arabinoza
- E1 - D-ryboza
- E11 - Ksylitol
- D5 - α -metylo-D-galaktozyd
- E5 - L-sorboza
- D12 - L-ramnoza
- A6 - Adonitol
- D8 - β -metylo-D-glukozyd
- C8 - α -D-laktoza
- D2 - D-mannoza
- B5 - D-fruktoza
- B7 - D-galaktoza
- E7 - Sacharoza
- A11 - Arbutyna
- E9 - D-trehaloza
- D4 - D-melibioza
- E10 - Turanoza
- E6 - Stachioza
- E8 - D-tagatoza
- D10 - D-psikoza
- D7 - α -metylo-D-glukozyd
- C11 - Maltoza
- C12 - Maltotrioza

- B8 - Kwas D-galakturonowy
- F6 - Kwas p-hydroksyfenylooctowy
- G1 - Kwas D-glukarowy
- G6 - Kwas N-acetylo L-glutaminowy
- F10 - Kwas D-jabłkowy
- F11 - Kwas L-jabłkowy
- F9 - Kwas L-mlekowy
- C3 - Kwas-D-glukuronowy
- C7 - Kwas 2-okso-D-glukonowy
- F5 - Kwas γ -hydroksymasłowy
- F4 - Kwas β -hydroksymasłowy
- F12 - Kwas chinowy
- F3 - Kwas fumarowy
- B10 - Kwas D-glukonowy
- G4 - Kwas bursztynowy
- F7 - Kwas α -okso-glutarowy
- G2 - Kwas sebacynowy